

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 21620071152024

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

钝顶螺旋藻 *mreBC* 基因的克隆及 MreC 蛋白的定位研究

Cloning of *mreBC* and localization of MreC in *Spirulina platensis*

指导教师姓名: 刘仁海 副教授

徐 虹 副教授

专 业 名 称: 水生生物学

论文提交日期: 2010 年 06 月

论文答辩时间: 2010 年 06 月

学位授予日期: 2010 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2010 年 06 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的
研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表
的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规
范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()
课题(组)的研究成果,获得()课题(组)
经费或实验室的资助,在()实验室完成。

(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,
未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

200 年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

200 年 月 日

目录

| | |
|---|-----|
| 摘要..... | I |
| Abstract | III |
| 1 前言..... | 1 |
| 1.1 螺旋藻概述 | 1 |
| 1.2 原核细胞形态建成 | 3 |
| 1.3 MreC 蛋白及其在原核细胞形态建成中的作用 | 7 |
| 1.4 钓取未知序列 DNA 片段的 PCR 方法概述 | 11 |
| 1.5 免疫荧光技术 | 16 |
| 1.6 本研究的目的及意义 | 18 |
| 2 材料与方法 | 20 |
| 2.1 材料 | 20 |
| 2.2 方法 | 26 |
| 3 实验结果与分析 | 34 |
| 3.1 <i>mreBC</i> 序列的钓取及分析..... | 34 |
| 3.2 MreC 蛋白的表达、抗体制备及在不同形状藻丝体中表达量的差异检测 | 41 |
| 3.3 螺旋藻 MreC 蛋白在大肠杆菌中的过表达对菌体形态的影响..... | 47 |
| 3.4 螺旋藻 MreC 蛋白在细菌和螺旋藻丝体中的荧光定位研究..... | 48 |
| 4 讨论..... | 56 |
| 4.1 MreC 的生物信息学分析..... | 56 |
| 4.2 螺旋藻 MreC 蛋白在大肠杆菌中的细胞定位情况 | 57 |
| 4.3 螺旋藻中 MreC 的细胞定位情况 | 58 |
| 4.4 螺旋藻 MreC 过表达对大肠杆菌形态的影响..... | 58 |
| 4.5 MreC 与螺旋藻形态 | 59 |
| 5 小结与展望..... | 60 |
| 参考文献..... | 61 |
| 缩略词及中英文对照..... | 65 |
| 致谢 | 66 |

Catalogue

| | |
|--|------------|
| Abstract (Chinese version) | I |
| Abstract (English version) | III |
| 1 Preface | 1 |
| 1.1 Introduction of <i>Spirulina</i> | 1 |
| 1.2 Morphogenesis of prokaryotic cells..... | 1 |
| 1.3 Cell-shape protein MreC and its function in morphogenesis..... | 3 |
| 1.4 Method of cloning unknown DNA sequence using PCR..... | 7 |
| 1.5 Introduction of immunofluorescence techniques..... | 11 |
| 1.6 Aims and significances of this research..... | 16 |
| 2 Materials and methods | 18 |
| 2.1 Materials..... | 20 |
| 2.2 Methods..... | 26 |
| 3 Results and analysis | 34 |
| 3.1 The cloning of <i>mreBC</i> gene..... | 34 |
| 3.2 The expression and antiserum preparation of MreC and differential proteomics analysis of various morphologic <i>S. platensis</i> | 41 |
| 3.3 The effect of overexpressed MreC on morphology of <i>E.coli</i> | 47 |
| 3.4 The localization of MreC in <i>Spirulina platensis</i> | 48 |
| 4 Discussion | 56 |
| 4.1 Bioinformatics analysis of MreC..... | 56 |
| 4.2 Localization of overexpressed MreC in <i>E.coli</i> | 57 |
| 4.3 Localization of MreC in <i>S.platensis</i> | 58 |
| 4.4 The effect of overexpressed MreC on morphology of <i>E.coli</i> | 58 |
| 4.5 The function of MreC in morphogenesis of <i>S. platensis</i> | 59 |
| 5 Summary and Prospect | 60 |
| References | 61 |

| | |
|---|----|
| Abbreviations and Chinese/English glossary | 65 |
|---|----|

| | |
|------------------------------|----|
| Acknowledgement | 66 |
|------------------------------|----|

厦门大学博士论文摘要库

摘要

螺旋藻(*Spirulina*)营养十分丰富,是迄今所发现的天然食物中蛋白质含量最高的生物,是全球开发规模最大的经济微藻之一。螺旋藻多形性变异不仅在实验室有所报道,在大规模的工厂化养殖中也时有发生。这种变异不仅影响藻丝体的生长状况,同时也影响了藻丝体的收集,对螺旋藻养殖业影响较大。尽管一些学者对这种形态转变的原因和机理进行了推测和实验探索,但具体的作用机理仍不得而知。*mreC* 是原核细胞形态决定基因,本文通过研究螺旋藻 MreC 在不同形态螺旋藻中的表达量、定位及其过表达对大肠杆菌形态的影响,探讨 MreC 蛋白在螺旋藻形态建成过程中的作用。

我们以钝顶螺旋藻 FACHB869s(*Spirulina plantensis* FACHB869s)基因组为模板,设计简并引物扩增得到部分的 *mreB* 基因片段,再通过基因组步行的方法最终克隆得到 *mreBC* 基因。二级结构预测显示, MreC 蛋白 N 端由 2 个长的 α 螺旋组成, C 端由 12 个短的 β 折叠组成,与细菌中 MreC 的二级结构极为相似。氨基酸保守性分析结果显示,螺旋藻 MreC 蛋白 N 端的 α 螺旋中存在多个重复的亮氨酸残基,推测其与丝状形态的形成有关;另外在序列中还存在一个高度保守的 Thr-Ser 二肽,此二肽为在 α -溶解蛋白酶和丝氨酸蛋白酶中高度保守,推测 MreC 与蛋白酶有着极大的相关性。

以克隆的螺旋藻 *mreC* 基因序列为基础,我们将 *mreC* 克隆至表达载体 pGEX-6P-1 中表达并纯化、制备了相应的多克隆鼠抗。通过 western blot 检测两种螺旋藻 FACHB869 和 FACHB882 中 MreC 的表达量,结果显示在螺旋藻 FACHB869 中 MreC 在螺旋形藻丝体中上调表达,在螺旋藻 FACHB882 中则在直线形藻丝体中上调表达,这说明与螺旋藻形态之间并无直接相关。融合蛋白 MreC-GST 在大肠杆菌中的过表达结果显示,诱导后过表达 MreC-GST 的大肠杆菌长度增加 105%左右,但同时作为对照的 GST 过表达大肠杆菌长度也增加约 105%,因此我们认为 MreC-GST 的过量表达并未对菌体长度产生影响。

蛋白的定位情况与其功能有着密切联系。本实验通过融合绿色荧光蛋白 GFP 的方法探讨了螺旋藻 MreC 在大肠杆菌中的定位,结果显示 MreC 定位于细胞周质中。在生长期细胞中, MreC 在侧壁呈不均匀的点状分布;在分裂期细胞中,

MreC 定位于潜在的分裂位点；在分裂刚刚完成的细胞中，MreC 定位于新生的细胞极。另外，本实验还通过 MreC 融合 GFP 后转化螺旋藻和免疫组化的方法研究 MreC 在螺旋藻中的定位情况。GFP-MreC 表达量过高导致荧光过强，无法准确定位 MreC 的分布情况。免疫组化结果显示，MreC 定位于藻细胞连接部位，且分布不均匀，推测这种不均匀定位方式是导致螺旋形态建成的重要原因。

关键词：钝顶螺旋藻；MreC；形态建成；

Abstract

Spirulina is a kind of blue-green algae which is rich in proteins, vitamins, minerals, and carotenoids. The morphological transformation of *Spirulina* is frequently observed in lab and industrial conditions. This transformation always causes a harmful influence on the growth and harvest but its mechanism is still unknown so far. MreC, known as a prokaryotic cell shape determination protein, was picked out for further research to explore the morphogenesis determination mechanism of *Spirulina*.

The *mreBC* gene from *Spirulina plantensis* FACHB 869 was cloned by genome walking. It was shown that MreC was composed of 2 long α -helices at N terminal and 12 β -sheets at C terminal through the prediction of secondary structure. Sequence alignment shows that MreC possesses leucine residue repeats in α -helices at N terminal and a highly conserved Thr-Ser dipeptide in the β -sheets, which respectively involved in filament formation and protease activity.

The *mreC* gene from *Spirulina plantensis* was cloned and then expressed in *E.coli*. western blot showed that MreC was slightly upwardly adjusted in spiral algal trichomes in *Spirulina plantensis* FACHB869 but downwardly adjusted in *Spirulina plantensis* FACHB882 which suggest that the expression level of MreC was irrelevant with morphogenesis of *Spirulina*. Overexpression of MreC-GST in *E.coli* lead to a longer cell but the same affect was observed in overexpression of GST.

To determine the localization of MreC, *mreC* gene was subcloned into plasmid pEGFP-recA and was in-frame fusion expressed with green fluorescent protein (GFP) in *E.coli*. MreC-GFP was observed to locate in the periplasm and form irregularly distributing spots at the lateral wall in the elongating cells. While in the dividing cells, MreC-GFP was located at the potential division side and remained at the new pole after the division was completed. All the result suggest that MreC was involved in the cell elongation and division.

In order to track the subcellular location of the MreC, the integrated construct was generated by inserting *mreC* gene into pEGFP-recA-Km and then transformed into *Spirulina platensis* FACHB 869s. But the location of MreC was hard to judge due to the large fluorescence corona that was caused by overexpressed GFP-MreC. Therefore, We have to examine the location of MreC in *Spirulina* by immunofluorescence analysis. The result shows that MreC located at the cell junctions and its distribution is not even, this unevenly distribution was considered to be very important for the spiral morphogenesis.

Key word: *Spirulina platensis*; MreC; morphogenesis

1 前言

1.1 螺旋藻概述

1.1.1 螺旋藻的形态生物学和生理学特性

螺旋藻(*Spirulina*), 又称节旋藻(*Arthrospira*), 在分类学上属于蓝藻门(Cyanobacteria), 颤藻目(*Oscillatoriales*), 节旋藻属(*Arthrospira*), 是一种多细胞、不分枝、无异形胞的微型丝状藻。藻细胞靠分裂增殖, 营光合自养, 主要生长于热带高温的碱性湖水中, 同时广泛分布于土壤、沼泽、温泉、淡水及咸水湖泊和海洋中, 在地球上已有 35 亿年的历史, 是现存最古老的植物之一^[1]。虽然目前发现的螺旋藻有 50 多种, 但是大规模培养的只有极大螺旋藻(*Spirulina maxima*)与钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)^[2]。

螺旋形状是螺旋藻属的特性, 但是螺距及螺旋直径随品种不同而异。光学显微镜下, 钝顶螺旋藻呈蓝绿色, 多细胞线性排列形成丝状, 细胞近方形, 细胞宽 6~8 μm , 长 4~6 μm , 螺旋疏松弯曲, 螺旋藻宽 33~42 μm , 螺间距 52~84 μm , 藻丝长 200~500 μm , 末端细胞宽圆形, 横壁略收缢。极大螺旋藻呈灰绿色, 细胞宽 7~9 μm , 长小于宽, 螺间距 70~80 μm , 顶端微尖, 横壁不收缢^[3]。

螺旋藻是地球上最早出现的产氧光合原核生物, 其超微结构和生物特性很像细菌和高等植物的叶绿体, 其藻细胞中含有不成堆的光合片层(类囊体), 光合作用的电子传递反应发生于类囊体内, 它所含的光合色素有叶绿素 a, 藻蓝蛋白、藻红蛋白及别藻蓝蛋白。据研究发现, 钝顶螺旋藻光能利率为 6%~12%, 远远高于自然生长或种植的作物^[4]。

1.1.2 螺旋藻的营养成分及药理学研究进展

螺旋藻含有丰富的蛋白质、氨基酸、多糖、维生素(维生素B、C、E等)、类胡萝卜素(包括 β -胡萝卜素、玉米黄素、海胆烯酮等)、 γ -亚麻酸, 无机元素Na、K、Ca、Mg、以及微量元素Fe、Co、Mn、Ni、Cr、V、Zn、Se、Cu等^[5], 营养价值十分丰富, 其中蛋白含量更是达到细胞干重的50%-70%, 是迄今所发现的天然食物中蛋白质含量最高的生物^[6]。同时, 螺旋藻细胞壁纤维素含量少, 极易被人体消化吸收, 因而被联合国粮农组织和世界卫生组织分别誉为“21世纪最理想

的食品”和“人类21世纪最佳保健品”^[7-9]。

大量实验表明,螺旋藻在增强免疫力、抗氧化、抗衰老、抗辐射、抗肿瘤等方面有着显著的药理学作用。陈新霞^[10] 等通过小鼠迟发性超敏变态反应、小鼠血清溶血素实验及小鼠碳廓清实验,证实螺旋藻对细胞免疫、体液免疫和单核—巨噬细胞吞噬功能都有显著的增强效果; 庞辉^[11] 等研究证明,饲喂螺旋藻使大鼠力竭运动时间显著增加,运动后血清乳酸脱氢酶、磷酸肌酸激酶、谷草转氨酶活性增高幅度较饲喂常规饲料显著减小,表明螺旋藻可以减轻运动引起的氧自由基损伤,保护细胞膜结构,有抗运动疲劳作用;王侑先和孟正木^[12] 等研究发现螺旋藻对小鼠S180和宫颈癌U14有明显的抑制作用,当剂量为25mg/kg时抑瘤率分别为51.82%和37.93%。

1.1.3 螺旋藻产业的发展概况

螺旋藻具有丰富的营养价值和极高的药理学效用,同时还具有无毒性、生长周期短而速度快、光能转化率高的罕见特点,因此被大规模用于商业化的养殖产业。从1940年法国药物学家 Greach 在乍得湖发现螺旋藻,到世界上第一座螺旋藻工厂由 Sosa Texcoco 公司于1973年建成投产,螺旋藻养殖产业得到飞速发展。到1992年国外共有螺旋藻工厂12家,分布在墨西哥、美国、泰国、日本、以色列及台湾等国家和地区,年产量达1200吨(干重)。其中墨西哥 Sosa Texcoco 公司年产量维持在300t左右;我国台湾省有四家公司,年产藻粉300t;美国目前年产藻粉约210t,日本既是螺旋藻生产大国,也是螺旋藻消费大国,据有关资料估计,日本每年需要螺旋藻400-450吨,其中作为保健用途的约150-200吨,作为饵料的约100吨,提取天然蓝色素—藻蓝色素约30吨(约需150吨藻粉)。

我国对螺旋藻的研究较国外晚^[13]。在20世纪70年代,螺旋藻藻种引进到中国,七·五期间,螺旋藻作为饲料蛋白开发项目首次被列入国家科技攻关计划,这是我国系统研究开发螺旋藻的开端,经过四年多的协作攻关,取得了丰硕的成果。1989年胡鸿钧教授建起我国第一座面积为300亩螺旋藻养殖中试基地,年产螺旋藻干粉5吨。1990年以来,螺旋藻的研究和开发利用掀起热潮,截止到1995年底全国共有80多家工厂,年产量约达800吨螺旋藻干粉,占世界产量的1/4^[14]。随着人们对螺旋藻营养价值的认识日益普及和深入,螺旋藻产业的前景

必然非常广阔。

1.2 原核细胞形态建成

大量研究表明,稳定的细胞形态对于细菌的生存和正常的生理活动是必须的,然而自然界中细菌表现出极为丰富的细胞形态,为什么细菌的形态有如此巨大的差异性? Young, K.D.^[15] 认为主要有两个原因,一是自然选择的压力,包括对营养的竞争(增大表面积与体积比)和与捕食者的对抗等方面;另外一个是在外的约束机制,包括个体扩散能力的限制,以及细胞组织膨胀的压力。随着大量基因组的测序成功及荧光定位技术的发展,原核细胞骨架的发现,细胞形态的决定机制研究逐渐深入到分子层面。

1.2.1 细胞形态的决定因素

现在我们知道,细菌细胞的形态决定取决于三个因素^[16]:细胞壁,膨压和细胞骨架。细菌细胞壁主要成分是肽聚糖层(Peptidoglycan, PG),它是由肽桥交错连接糖链而成的网络结构,并围绕整个细胞质周围,形成一股向内的约束力以抵抗膨压所带来的向外的张力;细胞膜的存在导致渗透压力的产生,并由此产生细胞膨压。膨压的存在导致细胞不断生长,旧的细胞壁破裂,新的细胞壁物质插入缝隙中造成细胞的不断延伸和生长。细胞壁的合成和裂解需要一个精确的时空调控机制,这个机制则需要细胞骨架来实现。

1.2.2 细菌细胞壁的构造和化学组成

根据细菌细胞壁的构造和化学组成不同,可将其分为 G^+ 细菌与 G^- 细菌。 G^+ 细菌的细胞壁较厚(20~80 μm),但化学组成比较单一,只含有 90% 的肽聚糖和 10% 的磷壁酸;但 G^- 细菌的细胞壁较薄(10~15 μm),却有多层构造(肽聚糖和脂多糖层等),其化学成分中除含有肽聚糖以外,还含有一定量的类脂质和蛋白质等成分^[17]。

肽聚糖又称粘肽(mucopeptide)、胞壁质(murein)或粘肽复合物(mucocomplex),是细菌细胞壁中特有成分。每一个肽聚糖单体是由 3 部分组成:(一)双糖单位:由 N-乙酰葡萄糖胺(以 G 表示)和 N-乙酰胞壁酸(以 M 表示)以 β -1,4-糖苷键交替连接起来,构成肽聚糖骨架。(二)短肽尾:一般是由 4 个氨基酸连

接成的短肽链连接在 N-乙酰胞壁酸分子上。在 G^+ 细菌如金黄色葡萄球菌中 4 个氨基酸是按 L 型与 D 型交替排列的方式连接而成的, 即 L-Ala, D-Glu, L-Lys, D-Ala; 在 G^- 细菌如大肠杆菌中为 L-Ala, D-Glu, m-DAP(内消旋二氨基庚二酸), D-Ala。(三)肽桥: 肽桥将相邻“肽尾”相互交联形成高强度的网状结构。不同细菌的肽桥类型不同。在 G^+ 细菌如金黄色葡萄球菌中肽桥为甘氨酸五肽, 这一肽桥的氨基端与甲肽尾中的第 4 个氨基酸的羧基相连接, 而它的羧基端则与乙肽尾中的第 3 个氨基酸的氨基相连接, 从而使前后两个肽聚糖单体交联起来形成网状结构; 在 G^- 细菌如大肠杆菌中没有特殊的肽桥, 其前后两个单体间的联系仅由甲肽尾的第 4 个氨基酸 D-Ala 的羧基与乙肽尾第 3 个氨基酸 m-DAP 的氨基直接相连形成了较稀疏、机械强度较差的肽聚糖网套^[17]。

1.2.3 细菌细胞骨架

细胞骨架(cytoskeleton)是指真核细胞中的蛋白纤维网架体系。一般认为, 它由微管蛋白(tubulin)、肌动蛋白丝(actin filament)和中间丝(intermediate filament)这 3 种蛋白所组成^[18]。长期以来, 人们认为细胞骨架仅为真核生物所特有的结构, 然而随着显微技术的发展特别是高分辨率荧光显微技术在细菌中的应用, 人们逐渐发现细胞骨架也存在细菌等原核生物中^[19, 20]。

人们已经在原核细菌中发现了多种细胞骨架类似蛋白, 见表 1。其中 FtsZ、MreB 和 CreS 这 3 种重要的细胞骨架蛋白, 它们分别与真核细胞骨架的微管蛋白、肌动蛋白丝和中间丝类似^[21, 22]。下面对此 3 种重要的原核骨架蛋白进行介绍。

表格 1.部分细菌原核骨架蛋白的功能和机制^[23]

Table 1.Functions and mechanisms of selected bacterial cytoskeletal proteins

| Protein name | Eukaryotic homolog | Organisms | Function | Mechanism |
|--------------------------|------------------------|--|---|---|
| AlfA | Actin | <i>B.subtilis</i> ,on plasmid pLS32 | Segregate plasmid DNA | Unknown |
| FtsA | Actin | Many species | Cell division | Unknown |
| MamK | Actin | Magnetotactic species | Position magnetosomes | Scaffold |
| MreB | Actin | Nearly all rod-shaped species | Maintain cell shape,segregate chromosome, regulate protein localization | Possible scaffold |
| ParM | Actin | <i>E.coli</i> on plasmid R1 | Segregate plasmid DNA | Insertional polymerization ratchet |
| FtsZ | Tubulin | Nearly all species | Define the plane of division and constrict the cell | Scaffold |
| BtubA/B | Tubulin | <i>Prosthebaacter dejoneii</i> | Possible cell division | Possible scaffold |
| CreS | Intermediate filaments | <i>C.crescentus</i> only | Induce cell curvature | Unknown |
| MinD | None | Many species,including <i>E.coli</i> , <i>B.subtilis</i> | Prevent FtsZ polymerization at the poles | Scaffold for a FtsZ inhibitor, MinC |
| ParA, Chromosome-encoded | None | Many species,including <i>V.cholerea</i> and <i>C.crescentus</i> | Segregate chromosome | Possible depolymerization ratchet in <i>Vibrio</i> , others unknown |
| ParA,plasmid encoded | None | All types of species,on plasmids | Segregate plasmid DNA | Unknown |

1. 2. 3. 1 微管原核类似蛋白- FtsZ

1980 年, Lutkenhaus 等^[24]发现大肠杆菌突变株 PAT84 中具有一个新的丝状热敏感性基因 Z (filamentous temperature-sensitive gene Z, *ftsZ*)。迄今为止发现它

几乎存在于所有的原核生物之中。

FtsZ 蛋白在氨基酸序列、生化特性和装配特征等方面表现出与微管蛋白的相似性：FtsZ 包含的氨基酸序列 GGGTGTG 与微管蛋白的标志性序列(微管蛋白与鸟嘌呤的结合部位)相似，并且 FtsZ 蛋白与微管蛋白同属 GTP 结合蛋白，能自我装备形成原丝(proto-filament)和微管(microtubule)结构^[21, 25-27]。从蛋白三维结构上看，尽管 FtsZ 与微管蛋白氨基酸序列差异较大，但它们三维结构极其相似^[8]。

FtsZ 首先装配成原丝，并环绕细胞膜内壁形成螺旋丝状结构^[22]。然后由 FtsZ 原丝进一步在细胞分裂位点处装配形成一个环状结构(称为 Z 环)，该结构在细胞分裂中起重要作用^[8, 22, 28]。在细胞分裂时，Z 环首先正确定位于分裂位点，随后在 Z 环结构的作用下，细胞在该位点开始缢缩，同时募集分裂相关的其他蛋白到 Z 环之中。最终在 FtsZ 与相关分裂蛋白的共同作用下，细胞分裂隔膜形成并把母细胞分成二个子细胞。

1.2.3.2 肌动蛋白丝原核类似蛋白- MreB

mreB(murein cluster e B)在杆状细胞形态建成的相关研究中被首次发现^[29]，并被认为是细菌杆状形态建成的关键基因。此后，人们对 *mreB* 及其编码产物 MreB 的结构、功能等方面进行了深入的研究，结果发现 MreB 在氨基酸序列与三维结构^[30]、装配方式^[31]、结构与功能方面与真核生物中肌动蛋白丝均具有较高的相似性。

与肌动蛋白丝类似，MreB 也以螺旋丝状结构(Helical filamentous structure)的形式存在于细菌细胞中。MreB 单体先聚合形成单链，再由两条单链相互缠绕形成一条 MreB 原丝，最后由多条 MreB 原丝装配形成螺旋丝状结构环绕于细胞膜内壁上^[32]。Kim^[33]等研究发现，MreB 纤维丝在装配过程中也有类似真核细胞肌动蛋白丝的踏车现象存在。他们对 *Caulobacter crescentus* MreB 进行荧光标记将 MreB 纤维(fMreB)和 MreB 单体(gMreB)区分开，实验发现 gMreB 无方向性快速移动而 fMreB 则是缓慢有方向性移动，通过对它们的速度，距离和移动方向分析表明 gMreB 可能与质膜结合而 fMreB 表现为踏车现象。

MreB 是一种杆状细胞形态决定的重要蛋白，在 *Escherichia coli* 和 *C. crescentus* 中将 *mreB* 进行缺失突变后细胞的杆状形态缺失，表现为球状；在 *Bacillus subtilis*

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库